

CULTIVO DE LA OSTRA *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1795) EN UN VIVERO ARTESANAL, LA ARENA, CASMA.

THE OYSTER *Crassostrea gigas* (THUNBERG, 1795) CULTURE IN AN ARTISANAL BREEDING POND, LA ARENA, CASMA.

Paul Baltazar, Pablo Bermúdez y Willian Rivera (*)

RESUMEN

El presente trabajo describe la metodología empleada para el cultivo de la ostra del Pacífico *Crassostrea gigas* en un vivero artesanal, en el Centro Acuícola La Arena, Casma.

Se utilizó reproductores en fase intermedia de madurez gonádica procedentes de líneas de cultivo del Centro Acuícola. El acondicionamiento se realizó en tanques de fibra de vidrio de 1000 L, con agua de mar sin filtrar a una temperatura de $27 \pm 0,9$ °C; adicionalmente se les alimentó con fécula de maíz y microalgas obtenidas en el lugar y cultivadas al aire libre. El desove se indujo para un grupo sólo por estimulación térmica (30 a 31 °C) y para el otro se añadió además peróxido de hidrógeno, a lo cual se presentaron respuestas diferentes. A los 20 minutos después de la fertilización se observó, en el 100% de huevos fecundados, el cuerpo polar definido y a las 24 horas las larvas veliger. Las larvas alcanzaron el estado de pediveliger luego de 20 días de cultivo, con tallas promedios de 237 ± 10 µm. Para la fijación de las larvas se utilizó conchuela molida (300 µm), plástico negro lijado y valvas de ostras. A los 33 días se obtuvieron semillas con tallas medias de 1262 ± 204 µm las que fueron colocadas en *pearl net* para su desarrollo en el mar. A los 30 días de la siembra en el mar, la talla promedio de las postlarvas alcanzó los $13,4 \pm 3,4$ mm. El trabajo muestra las ventajas de la metodología descrita en la producción masiva de semillas en un vivero artesanal.

Palabras clave: *Crassostrea gigas*, maricultura, Viveros artesanales, desarrollo larval, ostra.

ABSTRACT

This paper describes the methodology used for the culture of Pacific oyster *Crassostrea gigas* in an artisanal breeding pond in the La Arena acuicola center, in Casma. Reproducers at gonadal maturity phase from the culture lines of the center were used. They were prepared in fiber glass tanks of 1000 L capacity with unfiltered sea water at $27 \pm 0,9$ °C, and fed with maize fecula and microalgae collected from site. In one group spawning was induced by thermal stimulation (30 to 31 °C), in the other one hydrogen peroxide was added, obtaining different responses. 20 minutes after fertilization the polar body was defined in 100% of fertilized eggs; veliger larvae were visible 24 hours after fertilization. Larvae reached the pediveliger stage 20 days after culture, with average sizes of 237 ± 10 µm. Ground shells (300µm), sandpapered black plastic and oyster valves were used for settlement of larvae. To the 33rd day, larva seeds had an average size of 1262 ± 204 µm. Then, they were introduced in pearl net for development in the sea. 30 days after sowing larvae in the sea, the average length of postlarvae was $13,4 \pm 3,4$ mm. This work showed the benefits of this methodology in the massive production of seeds in an artisan breeding pond.

Key words: *Crassostrea gigas*, mariculture, artisan breeding ground, larval development, oyster.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura marina es una actividad dirigida a producir y engordar organismos marinos, desde la obtención de larvas hasta

llegar a tamaños comerciales. Las técnicas necesarias para llevarlas a cabo están siendo desarrolladas en muchas partes del mundo, como una actividad tendiente a racionalizar la explotación de los recursos acuáticos y proporcionar alimento y trabajo.

La ostra del Pacífico es originaria de las costas de Japón, Corea y China. Su historia de cultivo

(*) Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES), Gerencia de Acuicultura, Av. Petit Thouars N.º 115, Lima 1 Perú. Email: fondepes@hys.com.pe.

supera los 350 años en Japón y fue introducida en todos los continentes debido a su gran capacidad de adaptación a las diferentes condiciones del medio. Los principales países que realizan su cultivo son Canadá, China, Corea, Estados Unidos, Alaska, Hawaii, Tahití, Islas Palau, Australia, Nueva Zelandia, Francia, Inglaterra, Sudáfrica, Chile, entre otros.

Las primeras investigaciones sobre ostras en el Perú se iniciaron en Tumbes en 1958, con la especie *Crassostrea corteziensis* a nivel bioecológico. Posteriormente en 1971-72, el Ministerio de Pesquería, en coordinación con el Instituto del Mar del Perú, efectuó estudios de factibilidad del cultivo de *C. columbiensis* y *C. corteziensis* en los esteros de Tumbes (Vera, 1976). Los primeros desoves y obtención de semillas de *Crassostrea gigas* en forma experimental se dieron en 1993 en los laboratorios de MARIEXPORT (datos no publicados), y en 1995 IMARPE obtuvo semillas en condiciones controladas con bajas mortalidades (Cisneros *et al.*, 1995).

En 1995, y en el marco del Protocolo de Asistencia Técnica celebrado entre el Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES) y Fundación Chile, se importó y sembró el primer lote de semillas de ostras del Pacífico u ostra japonesa *C. gigas* provenientes de Tongoy Chile, con lo que se iniciaron las operaciones del Centro Piloto de Acuicultura La Arena, en Casma. Los logros obtenidos en el proceso de crianza y la alta demanda de este recurso en el mercado interno motivaron el inicio de los experimentos de reproducción inducida para la obtención de semillas de esta especie, cuyos resultados se examinan en el presente trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en un vivero artesanal ubicado en Playa La Arena, Prov. de Casma, Dpto. de Áncash, Región Chavín,

Perú (09°21'26,25"S y 78°25'20,20" W), zona caracterizada por presentar altos tenores de oxígeno que varían entre 3,11 y 7,37 mL/L; con niveles de salinidad de 34,8 a 35,6 pmm, y temperaturas superficiales entre 15,9 y 27,3 °C, que varía con la estación del año o por la intensificación de periodos fríos o cálidos, que alteran el patrón estacional, ya sea alargando los veranos o haciendo más cálidos los otoños, inviernos y primaveras (Espino, 1997).

De las líneas de cultivo suspendido se seleccionaron 105 ejemplares con un peso medio de 181,5 g, los que fueron acondicionados en un vivero artesanal, durante 30 días utilizando tanques de fibra de vidrio de 1000 L de capacidad, con un flujo semicontinuo de 0,5 L/minuto de agua de mar sin filtrar, a temperaturas que fluctuaron entre 24 y 28 °C, con la finalidad de acelerar la maduración de las gónadas. Inicialmente se sacrificaron 5 ejemplares para determinar en qué fase de gametogénesis se encontraban. Diariamente se filtró agua de mar por bolsas de filtrado de 5 µm durante 4 a 6 horas, con el objeto de retener microalgas y utilizarlas como alimento. Las microalgas fueron cultivadas al aire libre para la utilización directa de energía solar, y enriquecidas con fertilizantes orgánicos (úrea, nitrato, guano animal y harina de pescado). El alimento se suministró por goteo (provenientes por gravedad desde los tanques de cultivo masivo), a una proporción de 1,5 mL/ostra/minuto durante las noches. Como complemento de la alimentación se suministró fécula de maíz.

Considerando la madurez sexual y el incremento de peso durante el periodo de acondicionamiento, se prepararon los reproductores para el desove. Previamente se retiraron los epibiontes de las valvas dejándolos por media hora en 40 L de agua dulce con 5 mL de hipoclorito de sodio, con el fin de eliminar los organismos incrustantes poliquetos perforadores, litofagos, etc., para evitar de esta forma la contaminación de los gametos durante el desove de las ostras, ya sea a través

durante el desove de las ostras, ya sea a través del desove de estos organismos nocivos en el proceso de inducción de la ostra, como por el contagio de enfermedades y plagas.

Los reproductores fueron colocados en seis tanques de fibra de vidrio de 20 L con agua de mar filtrada a 5 μm , a una temperatura inicial de 26,5 °C, la que fue elevándose gradualmente hasta los 31 °C (primer estímulo), y se agregaron en dos de ellos 5 mL de peróxido de hidrógeno (segundo estímulo). Conforme fueron desovando las ostras, éstas se separaron en recipientes individuales, con el fin de obtener los gametos por separado y evitar fecundaciones no deseadas. La fertilización se llevó a cabo en densidades de 3 a 6 espermios por óvulo y los huevos fueron puestos en tanques de 1000 L con agua de mar filtrada a 5 μm . El primer cambio de agua se efectuó cuando las larvas pasaron al estadio de charnela recta o "D", las que se mantuvieron con aireación constante; inmediatamente se inició la alimentación. Como alimento se les proporcionó las microalgas obtenidas del agua de mar filtrada y las del cultivo al aire libre, en densidades que fluctuaron entre 5000 y 1125000 cel/mL. La limpieza de los tanques y los cambios de agua se efectuaron diariamente, empleando tamices de malla nytex de diferentes diámetros de apertura de malla, para retener a las larvas que presentaban buen crecimiento, y se eliminaron las de crecimiento lento y las valvas de las muertas.

Las larvas y postlarvas fueron mantenidas a temperaturas de 22 a 28 °C, y cuando las postlarvas alcanzaron tallas de 1,2 mm fueron puestas en *pearl nets* de 800 μm y colocadas en las líneas de cultivo en el mar.

Como sustrato de fijación se usaron: conchuela molida de 300 μm , valvas enteras de ostras, plástico lijado, netlon y piedras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ACONDICIONAMIENTO

Al inicio del estudio, el 80% de los reproductores se encontraban en fase intermedia de madurez gonádica; previo al desove el 78% alcanzó el estadio de madurante avanzado. Al cabo de 30 días de acondicionamiento, el peso promedio de los reproductores fue de 189,7 g, y se obtuvo un incremento promedio de 8,2 g. Uno de los factores que influyó en el incremento del peso y el acelerado desarrollo de la madurez sexual estaría relacionado con el acúmulo de reservas de nutrientes (lípidos) durante el desarrollo de los gametos, dado que el alimento consistió de una gran variedad de microalgas obtenidas mediante el sistema de cultivo al aire libre, suplementadas con fécula de maíz, el cual es rico en polisacáridos. Estos últimos favorecen la formación de los productos sexuales de las ostras, ya que incrementan la reserva de glicógeno (Dupuy *et al.*, 1977), carbohidrato que constituye la principal fuente de energía de los bivalvos para sus procesos biológicos (Padilla, 1979). Asimismo, la elevada temperatura de acondicionamiento (27,3 \pm 0,9 °C), aceleró la gametogénesis y permitió que las células gonadales alcancen el estado de multiplicación.

DESOVE, FERTILIZACIÓN Y FECUNDACIÓN

Durante la inducción al desove, los reproductores a los que se adicionó peróxido de hidrógeno comenzaron a expulsar sus gametos al cabo de 3 a 5 minutos y el grupo que recibió sólo el estímulo térmico, demoró alrededor de 20 a 30 minutos. Se comprobó que el peróxido de hidrógeno acelera substancialmente la respuesta de las ostras para el desove.

Inestrosa (1991) sostiene que el peróxido de hidrógeno activa las hormonas relacionadas con la vía de las prostaglandinas, induciendo

así el desove en invertebrados que liberan gametos. Algunas etapas críticas del ciclo de vida de los invertebrados en cultivo (metamorfosis, asentamiento y desarrollo postlarval) pueden optimizarse mediante biotecnologías que incluyan métodos bioquímicos y de ingeniería genética, con la finalidad de controlar algunos procesos fisiológicos que limitan la eficiencia de la producción (Hodgson and Bourne, 1988, Chevoolt, 1991, Inestrosa, 1992).

Los primeros en desovar fueron los machos, y lo hicieron en forma continua en el mismo sentido del flujo de filtración; posteriormente se produjo el desove de las hembras, que evacuaron los óvulos en forma intermitente y en sentido contrario al flujo de filtración. El 77,5% de los óvulos se encontraron maduros y el 22,5%, inmaduros y deformados.

La fertilización se realizó a una densidad de 3 a 6 espermios/óvulo y al cabo de 2 a 5 minutos se observó la aparición de la membrana de fertilización en el 100% de los cigotos. La aparición del primer corpúsculo polar ocurrió entre los 10 y 15 minutos de la fertilización y a los 20 minutos, el 100% de los huevos fecundados presentaron cuerpo polar definido.

La división de los huevos siguió el patrón usual para moluscos y se obtuvo la gástrula a las 3 horas, y la trocofora entre 4 y 5 horas después de la fertilización. La transformación en larvas veliger o larva "D" se produjo entre las 22 y 24 horas con temperaturas promedio de $26,7 \pm 0,5$ °C. En este estadio la prodisoconcha I es secretada por la glándula de la concha sobre el lado dorsal de la larva, que presenta una superficie ligeramente lisa. El estadio "D" presenta un *velum* característico el cual le servirá como órgano de locomoción y de alimentación a la larva.

CRECIMIENTO DE LA VELIGERA

La talla media de la larva velíger fue de 80 μm de longitud al segundo día de la fecundación; a los 13 días, el 100 % de la larva se encontró completamente umbonada, con una talla media de $129,2 \pm 7,29$ μm ; a los 20 días el 90 % de la población se encontró en estadio Pediveliger, con una longitud media de $237,5 \pm 10,9$ μm ; las primeras fijaciones se iniciaron el día 21 con una longitud media de $250 \pm 18,71$ μm (Tabla 1).

En la figura 1 se presenta la curva de crecimiento y el ajuste de curva, que se expresa mediante una ecuación de regresión lineal, con una $r = 0,95$: $Y = 29,53 + 9,35 X$

Tabla 1. Desarrollo larval de *Crassostrea gigas* (Temperatura 24 a 29 °C; salinidad 35 ppm)

Días después de la fertilización	Longitud μm	Ancho μm
2	80	75
8	$95,7 \pm 7,2$	$108,0 \pm 4,4$
13	$129,1 \pm 7,2$	$137,0 \pm 6,2$
20	$237,5 \pm 10,9$	$255,0 \pm 22,9$
21	$250,0 \pm 18,7$	$277,5 \pm 17,9$
26	$310,0 \pm 10,2$	$297,5 \pm 10,9$
33	$1262,5 \pm 20,4$	$427,0 \pm 39,1$

Durante los primeros cinco días el crecimiento fue lento debido a la ausencia de microalgas apropiadas para el desarrollo de las larvas en esta etapa; es probable que las larvas se hayan estado alimentando a base de substratos metabólicos del agua de mar (Materia Orgánica Disuelta) como aminoácidos, azúcares y bacterias, como lo demuestran los trabajos de Manahan (1990), Douillet and Langdon (1993), Martinez (1994), entre otros. Posteriormente se observa un buen desarrollo larvario, con incrementos diarios en promedio de 12,05 μm .

FIJACION DE LAS LARVAS

Las mayores fijaciones se presentaron sobre las conchuelas molida (69,3 %), plástico lijado (18,3%) y en menor proporción (12,4 %) en las paredes del tanque de fibra de vidrio, tecnopor, netlon y valvas enteras de ostras (Fig. 2).

El hecho de que haya existido una mayor fijación de larvas en el substrato particulado y en el plástico lijado frente a otros substratos demuestra que la larva de ostra es capaz de responder diferencialmente a distintos substratos; esta capacidad para buscar la metamorfosis en substratos adecuados incrementa la posibilidad de que la larva se

desarrolle como postlarva en condiciones favorables. Hay que señalar que los colectores que tuvieron mayor tiempo de exposición en el agua de mar fueron los que mejor captación presentaron, debido a que las superficies se cubrieron más rápidamente con una película de bacterias no patógenas y/o microalgas y perifiton que facilitan la fijación. Esto ha sido demostrado para otros bivalvos y moluscos (Watanabe and Cox 1974; Coll 1986). Para la fijación de larvas de ostras anteriormente se ha demostrado que estas presentan algún tipo de respuestas a los diferentes substratos ofrecidos; los más aceptados para asentarse tempranamente son las de textura rugosa. El mecanismo de asentamiento incluyó la pérdida gradual de los cilios natatorios (velum) y la aparición de branquias definitivas convirtiéndose en Plantígrados.

Después de la fijación de las larvas de ostras, se ha observado que los diversos substratos empleados se recubren de una película de bacterias, restos de materia inorgánica y/o orgánicos, protozoarios y microalgas, que cubren algunos casos a las postlarvas ocasionando mortalidades; algunos colectores presentaron una coloración violeta, lo que es signo de infección bacteriana principalmente por *Vibrio* sp., estos fueron separados y lavados en agua de mar con cloro.

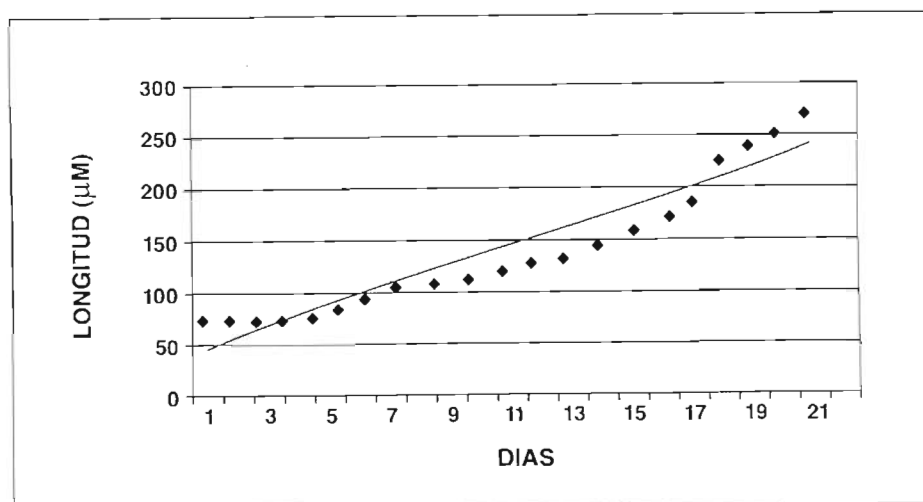


Figura 1. Curva de Crecimiento de *Crassostrea gigas*

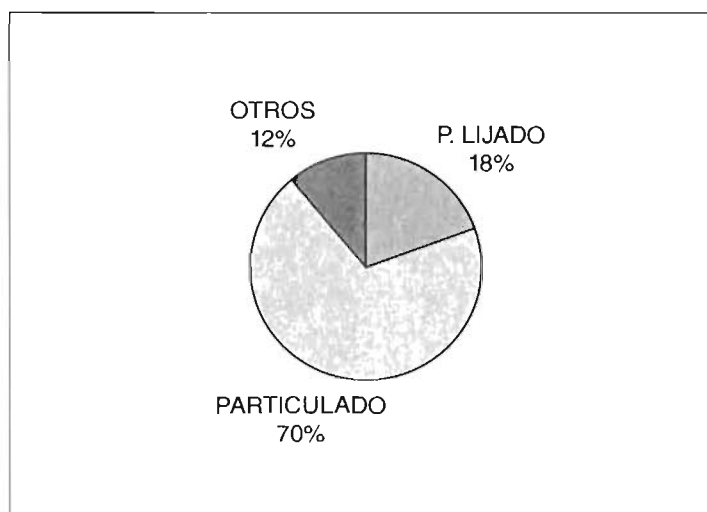


Figura 2. % de fijación por substrato de *Crassostrea gigas*.

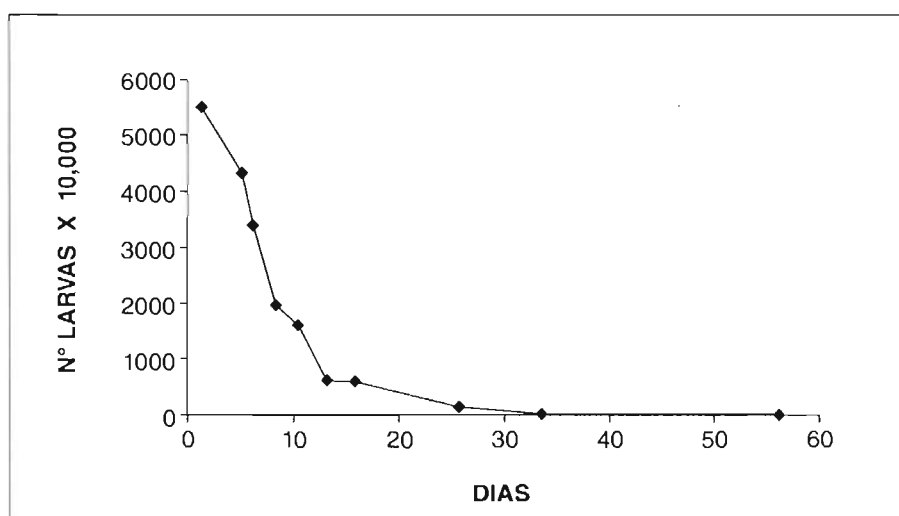


Figura 3. Curva de supervivencia de *Crassostrea gigas*

Al tercer día desapareció esta coloración, indicando que la infección había sido controlada; no se evidenció mortalidad de larvas con este tratamiento. Jeanthon *et al.* (1988) encuentran que las principales causas que promueven el crecimiento bacteriano en los tanques de fijación larval son las: temperaturas cercanas a los 25 y 26 °C, altas concentraciones de nutrientes inorgánicos y

la alta concentración de alimento. Además este autor sostiene que la mayor fuente de ingreso de bacterias a los tanques de cultivo provienen del alimento; a conclusiones similares llegamos nosotros, dado que el agua de mar y el alimento que se les dio es filtrada a 5 µm, lo que permite un alto ingreso de partículas nocivas para el cultivo de larvas; aunque cabe la posibilidad que el sistema de cultivo

empleado actualmente en La Arena permita que la larva sea más resistente y por ende haya menor mortalidad de postlarvas de ostras, como se observó.

SEMILLAS

A los 33 días se obtuvieron semillas con una talla promedio de $1,262 \pm 204,25 \mu\text{m}$, las que fueron sembradas en *pearl nets* a una densidad inicial de 5000 ejemplares/piso, al mes de la siembra, alcanzaron tallas medias de $13,4 \pm 3,4 \text{ mm}$; se observó un incremento de $12,1 \text{ mm/mes}$ y una tasa de crecimiento de $0,45 \text{ mm/día}$.

CURVA DE SUPERVIVENCIA

El análisis de la curva de supervivencia (Fig. 3) demuestra que la incubación se inició con 5,6 millones de huevos y que al cabo de 33 días se contaba con 540 mil semillas. Esto implica una supervivencia de 9,6 %, cuyo valor recíproco constituye una mortalidad del 90,4 %. Aunque no se tiene ningún índice para poder comparar estas cifras con las producidas en otros lugares bajo las mismas condiciones de cultivo, debe considerarse que los valores de supervivencia obtenidos, corresponden a dos individuos hembras que lograron 540 mil postlarvas, lo cual es una proporción de adultos a semilla bastante aceptables teniendo en cuenta que las primeras experiencias desarrolladas en concha de abanico y en condiciones controladas obtuvieron 16, 40 y 200 postlarvas (Padilla 1979; DiSalvo *et al*, 1984; Valdivieso *et al*, 1989, respectivamente).

CONCLUSIONES

El acondicionamiento de los reproductores ha demostrado ser eficaz, dado que se logró en poco tiempo (30 días) un incremento del peso (8,2 g) y de la madurez sexual. Los factores que influyeron positivamente fueron temperaturas mayores de 24°C y la variedad

de alimento suministrado a las ostras reproductoras en los tanques de acondicionamiento. Queda establecido que la metodología empleada para el acondicionamiento permitió la maduración del 78 % de los reproductores en un período de 30 días y su desove a temperaturas de 30 a $31,5^\circ\text{C}$.

Se logró inducir el desove mediante estimulación térmica y adición de peróxido de hidrógeno. El empleo del peróxido de hidrógeno acortó el tiempo de desove.

El trabajo ha mostrado que es posible obtener producciones masivas de larvas y semillas de ostras de $1,2 \text{ mm}$ en un vivero de plástico, en un período de un mes, desde el momento de la fertilización, con temperaturas de 22 a 28°C . Mayores volúmenes de semillas podrían obtenerse a través de modificaciones en las instalaciones (caldera, tratamiento de agua de mar, volumen de cultivo, producción de alimento etc.).

El cultivo masivo de microalgas al aire libre usando como nutrientes fertilizantes orgánicos representan una alternativa buena y barata como fuente de alimento, principalmente para las fases (etapas) de acondicionamiento y semillas; más no para alimentar a las larvas cuando éstas se encuentran en proceso de crecimiento. Por otro lado este sistema es sólo aprovechable en periodos de verano y primavera cuando hay mayor radiación solar, en que se llega a obtener densidades de 1125000 cel/mL en 4 días de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

En especial a la Blg. Violeta Valdivieso, Gerente de Acuicultura de FONDEPES, por estimular el desarrollo de este trabajo, y al Sr. Josue Espinosa Ventocilla por la asistencia en el cultivo de las larvas.

LITERATURA CITADA

- Cisneros, R., E. Fernández y J. Bautista. 1995. Adaptación y reproducción de la ostra *Crassostrea gigas* en ambiente controlado. Informe Prog. Inst. Mar Perú -Callao 13: 23 pp.
- Coll, M. J. 1986. Acuicultura marina animal. Ed. Mundi Prensas, España. 670 pp.
- Chevoilt, L. 1991. Chemical induction of larval metamorphosis of *Pecten maximus* with a note on the nature of occurring triggering substances. Mar. Ecol. Prog. Ser. 74: 83-89.
- Disalvo, L., E. Alarcón, E. Martínez and E. Uribe. 1984. Progress in mass culture of *Chlamys (Argopecten) purpuratus* Lamarck (1819) with notes on its natural history. Rev. Chilena de Historia Natural 57: 35-45.
- Douillet, P. and C. J. Langdon. 1993. Effects of marine bacteria on the culture of axenic oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) larvae. Biol. Bull. 184: 36-51.
- Dupuy, J. L., N. T. Windsor and Ch. E. Sutton 1977. Manual for design and operation of an oyster seed hatchery for the American Oyster: *Crassostrea virginica* In: Applied marine science ocean engineering of the Virginia Institute of Marine Science. Gloucester Point. Virginia, Special Report 142.
- Hodgson C. A. and N. Bourne. 1998. Effect of temperature on larval development of the spiny scallop *Chlamys hastata* Sowerby, with a note on metamorphosis. Jour. Shellfish Res. 7(3): 349-357.
- Espino, M. 1997. El Niño 1997-?: Una propuesta de diferenciación según ciclos ambientales. Inf. Int. Inst. Mar Perú, 8 pp.
- Inestrosa, N. C. 1991. Biotecnología en el cultivo de invertebrados marinos. Libro de resúmenes IV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo-Chile, p. 68.
- Inestrosa, N. C. 1992. Inducción de metamorfosis en larvas de *Concholepas concholepas* por el ión K+. Bol. Reg. Acui. Am. Lat. 6: 16-19.
- Jeanthon, C. D., Prieur and J. C. Cochard. 1988. Bacteriological survey of antibiotic-treated sea waters in a *Pecten maximus* Hatchery. Aquaculture 71: 1-8.
- Manahan, D. T. 1990. Adaptation of invertebrate larvae for nutrient acquisition from seawater. Amer. Zool. 30: 147-160.
- Martínez, G. 1994. Alimentación y nutrición de larvas de moluscos. VII Curso Internacional de Moluscos. Universidad Católica del Norte, Coquimbo-Chile; Programa de Cooperación Técnica Chile-Japón. 96-120 pp.
- Padilla, M. G. 1979. Desarrollo larval del ostión *Chlamys (Argopecten) purpuratus* Lamarck (1819) en condiciones de laboratorio (Mollusca Pelecypoda), Cien. y Tec. del Mar, CONA 4: 41-52.
- Watanabe, J. and L. Cox. 1974. Spawning behavior and larval development in *Mopalia lignosa* and *Mopalia muscosa* (Mollusca: polyplacophora) in Central California. Veliger 18: 18-27.
- Valdiviezo M., C. Loyola y F. Gallegos. 1989. Producción experimental en semilla de concha de abanico en ambiente controlado, Callao-Perú. Rev. Pacífico Sur (Número Especial): 601-606.
- Vera, R. J. 1976. Cultivo de Moluscos. Convenio Ministerio de Pesquería - Instituto del Mar del Perú. Bienio 1971-1972, 71 pp.